



TITLE:

自由:39 霊長類におけるMHC遺伝子群の構造と機能の解析(III 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

猪子, 英俊; 高田, 肇

CITATION:

猪子, 英俊 ...[et al]. 自由:39 霊長類におけるMHC遺伝子群の構造と機能の解析(III 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1995, 25: 104-105

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164650>

RIGHT:

どの個体も1カ所の切断点があるが、変異は検出されなかった。

β グロビン遺伝子に関してのSouthernハイブリダイゼーションでは、制限酵素Ava IIとBamH Iについての結果をみるかぎりでは変異はみられていない。

今までのところ、タイのカニクイザルではRFLPの変異は観察されていないが、今後 はもっと多くの制限酵素を用い、多くの部位を調べることにより、変異性の有無や程度を検討していきたい。また、違う地域のカニクイザルやスラウェシマカクなど異なる種についての解析も予定しており、種あるいは地域集団に特異的な変異やそれぞれの種内変異性について記載し、 β グロビン遺伝子領域の塩基の変異が系統解析などに有効かどうかなどを考察したい。

自由: 37

リボソームRNA遺伝子からみたマカク類の種内変異

鈴木 仁 (東京慈恵会医科大学・医科研)

本研究の目的は(1)リボソームDNA(rDNA)のスペーサー上の制限酵素断片長の多型性(RFLP)を指標とし、マカク類の系統分類学的類縁関係を明らかにし、さらに(2)地域間変異についても同様の手法で解析することである。これによりマカク類各種が保有する地域集団について核の遺伝子からみた進化的位置づけが可能になると思われる。

これまで報告したように、Foodenに従ってマカク属を19種に分類すると、これらは以下の3つのグループに分けることができた。(A)バーバリマカク、(B)ブタオザル類(ブタオザル、シシオザル、スラウェシ島の7種)、(C)アカゲザル類(ニホンザルを含む他の9種)である。そしてB・Cの分岐はおおよそ500万年前、A・(BC)間の分岐は100-200万年前と見積もられた。アカゲザル類の中では調べた24個の制限酵素サイト内、0.5-2個のサイトの変異しかないので、DNA小断片の欠失挿入変異も考慮した。18SrRNA遺伝子5'末端上流スペーサーのBclIサイト付近の約500bpの欠失(18 Δ)と28S下流のPvuIIサイト付近の約200bpの欠失(28 Δ)が認められた。これら

の変異を含めてアカゲザル類の類縁関係をみると、3つのグループに分けることができた。(a)ベニガオザル、チベットモンキー、ニホンザル(ヤクザルを含む)、カニクイザル、(b)アカゲザル、タイワンザル、(c)トクモンキー、アッサムモンキー、ボンネットモンキーの3つである。ベニガオザルとチベットモンキーに関しては調べたサイト及び欠失の変異に関する限り、すべて同一であり、またヤクザルとは28 Δ の有無に関してのみ変異が認められた。アカゲザルとタイワンザルの違いはアカゲザルにおいて18S上流のEcoRIサイトでゲノムの半量で新しい変異が蓄積しているだけの差であった。この変異量はニホンザルとヤクザルの種内変異量に相当している。今後、さらに分布域の広いアカゲザル、カニクイザルの各地域集団の変異のパターンについて解析する必要があると思われる。

自由: 39

霊長類におけるMHC 遺伝子群の構造と機能の解析

猪子英俊 (東海大学・医学部・分子生命科学)

高田 肇 (東海大学・医学部・分子生命科学)

免疫応答を制御し、顕著な遺伝的多型性をしめすMHC 遺伝子群は、多重遺伝子族に属し、進化的に興味ある領域である。本研究は、最終目的として霊長類のMHC 遺伝子群の構造とパルスフィールド電気泳動や、クローニングにより解析することにより、遺伝子群の進化の道筋を解明することを念頭に、昨年度に明らかにしたMHC 抗原の発現が減少しているサル個体の家系の分析とサルのギランバレー症候群様症状を呈するHLA 抗原を調べることににより、サルにおけるMHC 抗原の遺伝的解析を行った。

昨年度の研究においてみいだした、MHC クラスII抗原の発現が通常の $\frac{1}{5}$ に低下している個体について、その家系調査を施行したが現在までのところこの個体と同様に、MHC クラスII抗原の発現が低下している個体はみだすことができなかった。この事実は、クラスII抗原の低下が遺伝的劣性によるものか、それとも遺伝的変異にもとづくものではないと考えられる。

ヒトでは、ギランバレー症候群はHLA-B35と強く相関することが知られている。そこで、霊長

研で飼育されているギランバレー症候群様の症状をしめしたサルについて、HLA-B35 の抗血清あるいはモノクローナル抗体を用いて、反応性を検討したが、結果は陽性であった。この事実は、サルのギランバレー症候群の発症機構がヒトのそれと異なっている可能性をしめしている。今後ヒトとサルのMHC 系を遺伝的、血清学的に比較、検討することにより、MHC 系の進化の過程を明らかにしていきたいと考えている。

自由：40

植物におけるペプシン阻害物質の検索と同定

手塚修文（名古屋大学・情報分文化学部・自然情報学科）

サルが植物の葉・蕾・木の実（種子）などを食べた後に、その植物に含まれる様々な成分が消化機能に与える影響、特にペプシンの活性に及ぼす効果について調べることを目的とした。

種々の植物の葉・蕾・種子などのサンプルを破砕して、そのホモジネート（中の成分）によるペプシン活性、つまり蛋白質分解能（proteolytic activity）に及ぼすホモジネート成分の影響について調査した。ホモジネートを遠心分離して得られた上清画分を用いるよりもホモジネートそのものを用いた方が咀嚼した状態に近いので、ホモジネートによる蛋白質分解能に対する効果になるべく胃の活動中の状態に近い条件で測定可能な実験系を確立してペプシン活性を測定した。葉では、サンゴジュ：61%，ヨモギ：48%，サクラ：39%，シイ：11%，クヌギ：27%，クス：26%，ツバキ：11%，ススキ：4%，ギシギシ：0%の阻害効果が見られた。また、ツバキ蕾では58%，ドングリ種子では25%，シイ種子では17%の阻害が見られた。

この事象はサルの食性・嗜好と深い関係があると思われる。さらに、この研究は植物中の物質がペプシン活性を阻害するという最初の発見であり、蛋白質分解能と食性に関する研究の重要な端緒を開いたことになる。

自由：41

正常およびエンドトキシン投与サルにおける外因系血液凝固プロテアーゼインヒビター（TFPI）の発現調節機構の検討

加藤久雄、円城寺慶一

（国立循環器病センター研究所）

TFPI は、組織因子／第VIIa因子複合体並びに第Xa因子を阻害する外因系血液凝固系の有力な制御因子である。細菌性炎症反応においては、細菌性エンドトキシンによって組織因子の発現が誘導され、血液凝固反応が開始される。そこで、炎症反応におけるTFPIの役割を明らかにする目的で、サルTFPIの発現調節機構について検討を行った。まず、各臓器での発現をノーザン・ブロッティングにより検討した。ヒトやラットでは肺、腎臓、心臓などが主要な産生臓器で、肝臓での発現は認められず、肝臓由来細胞でのみ発現が認められているが、サルでは肝臓においても肺に次ぐ強い発現が認められた。ヒトやラットにおける主要な産生細胞は血管内皮細胞であることから、この発現は肝類洞内皮細胞に由来することも考えられるが、細胞分画により得られた肝実質細胞でもTFPI mRNAの発現が認められたことより、サルにおいてはヒトの場合と異なり肝臓も主要な産生部位であることが明かとなった。この発現は抗TFPI抗体を用いた組織染色によっても肝実質細胞が染色されることから、蛋白質にまで翻訳されて産生されていることが明かとなった。エンドトキシン投与によってはその発現量は変化が認められなかった。この発現パターンは、ニホンザル、カンクイザル、アカゲザル、ワタボウシタマリンなど調べたサル全てにおいて共通であった。しかしながら、各臓器で発現しているmRNAのサイズはヒトと同じく2種類の分子種が認められた。次にヒトとサルの発現様式の違いを明らかにする目的で、発現調節領域の単離、構造解析を行った。ニホンサル白血球DNAライブラリーより5' 非翻訳領域を含むエクソン1をプローブとしてスクリーニングを行い3つのクローンを得た。これらによって転写開始点前後約30 kb、全長約60 kbの範囲をカバーしていた。転写開始点は、ヒトよりも約20 bpほど下流であったが、この領域の相同性は95%以上であった。現在、ヒトとサルTFPI遺伝子の5' flanking領域にレポーター遺伝